

学校编码: 10384

学号: 200225019

分类号\_\_\_\_\_密级\_\_\_\_\_

UDC \_\_\_\_\_

厦 门 大 学  
硕 士 学 位 论 文

色谱方法在中药质量控制中的应用研究

Application of Chromatographic Method in Quality

Control of Traditional Chinese Medicine

蒋轶伦

指导教师姓名: 王小如 教授

专 业 名 称: 分析化学

论文提交日期: 2005 年 5 月

论文答辩时间: 2005 年 6 月

学位授予日期:

答辩委员会主席: \_\_\_\_\_

评 阅 人: \_\_\_\_\_

2005 年 6 月

## 厦门大学学位论文原创性声明

兹呈交的学位论文，是本人在导师指导下独立完成的研究成果。本人在论文写作中参考的其他个人或集体的研究成果，均在文中以明确方式标明。本人依法享有和承担由此论文而产生的权利和责任。

声明人（签名）：

年 月 日

## 摘 要

中药是一个非常复杂的体系，如何全面有效的对中药质量进行控制是中药现代化的一个重要方面，也是中药规范化、走向世界的关键技术之一。目前，中药质量控制中存在的最大问题是中药的多指标控制水平低、质与量相关性差，因此，在了解和掌握各种现代化学分离分析方法的基础上，针对性地创建新方法，确定并分离提取中药有效成分，并获取其定性定量信息，是现阶段中药质量控制研究的核心。基于此，本论文工作以甘草、丹参、泽泻三味中药材为研究对象，探索了中药有效成分群的分离提取和色谱分离分析方法，发展了薄层色谱多次展开新方法，结合指纹图谱技术和化学计量学方法对药材质量进行了评价。其意义在于为建立此三味中药之研究开发及生产的标准规范体系提供有价值的参考依据和方法，为中药的质量控制及其现代化提供了可能的新途径。

论文第一章通过大量的文献，对国内外中药质量控制研究现状、发展趋势及甘草、丹参、泽泻三味中药的研究现状进行了归纳和总结；综述了现代薄层色谱的发展、系统组成、分离原理、特点、影响 TLC 分离的因素、薄层色谱在中药质量控制及其他方面的应用，并简要介绍了其最新发展，在文献综述的基础上，归纳了本论文研究课题的立体依据、研究目的、意义及主要内容。

论文第二章首先研究了甘草有效成分的超声辅助提取方法，此法比传统方法快速、高效；进而对固定相和流动相系统进行选择优化，发现碱化后的固定相利于酸性组分的分离，并确定两种不同极性的展开剂系统，即：醋酸乙酯—甲酸—冰醋酸—水(15: 1: 1: 2)和氯仿—甲醇—甲酸(5: 1: 0.1)；对样品进行了多次展开的研究，其中双变多次展开(BMD)方法可获得较

理想的分离，有效成分斑点分布在  $R_f$  值 0.15~0.85 范围内；同时考察了不同预饱和方式对薄层展开的影响，确定采用展开缸预半饱和方法以消除“边缘效应”，并对分离组分进行了鉴定和纯度分析。采用建立的甘草 TLC 指纹图谱研究了不同种甘草主要有效成分的分布特征，并发现甘草茎、叶的药用价值较低；由  $R_f$  值 0.28 处的一个特征峰区别了人工和野生的甘草药材，通过聚类发现野生甘草存在产地差异，而各地人工栽培甘草质量较为稳定；内蒙梁外甘草分析结果表明同种同产地甘草具有较好的共性，且传统的甘草等级划分有一定缺陷；最后通过对基地半野生样品生长动态的考察，提出了 6~8 月的甘草药材建议最佳采收期。

第三章以中江丹参、南丹参为分析对象，在前人实验基础上，应用 TLC 图像分析及聚类和主成分分析等化学计量学方法初步构建丹参 TLC 指纹图谱。结果表明，各等级内丹参药材主要指标成分含量分布情况具有共性，选取的 7 个 TLC 指纹峰对主成分的贡献率相当，指纹代表性好；在 250 和 288 天后，丹参、南丹参各主要指标成分含量均已趋于稳定。

第四章以中药泽泻生长动态为考察对象，探讨了高效液相色谱法的条件，以获得出峰全面、分离度好的色谱图，以泽泻标准对照药材为参照，用指标成分 24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 进行了定位，并测定二者含量，找出了 21 个指纹峰。获得的泽泻指纹图谱的特征性和专属性强，并具有良好的稳定性和重复性。结果提示，泽泻的最佳采收期为次年的 1 月中下旬，即生长时间 140 天左右。

关键词：色谱；中药；质量控制

## Abstract

Traditional Chinese medicine (TCM) is a very complex system, a comprehensive and effective analytical technology for the quality control of TCM is an important area of research in the modernization of TCM. In this thesis, the extraction of active components in TCM and the chromatographic separation of the active components group have been explored. A novel TLC multiple development method have been developed and applied in the analysis of licorice. Assisted with fingerprint technique and chemometrics, the chromatographic results have been used to assess the quality of TCM.

Chapter 1 is an overview of the current research status and developing trends of the quality control of TCM. It reviews new methods for the quality control of TCM, especially the fingerprint technique and latest research findings on the analysis, chemistry and pharmacology of licorice, radix salviae miltiorrhizae( danshen) and zexie. The history, apparatus, separation principle, characteristics, factors affecting TLC separation, and its application in quality control of TCM and other fields are also summarized in this chapter through the review of published references.

In chapter 2, development work on extraction of active components and the use of TLC separation for analysis of licorice are described. The silica gel static phase was basified. Separation was performed with two multi-phase solvent system: ethyl acetate-formic acid-acetic acid-water (15:1:1:2) and chloroform-methanol-formic acid (4:1:1) by multiple development technique.

An ideal separation with  $R_f$  values between 0.15-0.80 was achieved by the bivariate multiple development. With the established TLC fingerprint method of licorice, the characteristic of active components distributing of licorices in different species, differences between licorices of two cultivation ways, the clustering analysis of licorices cultivated in different regions and the real quality status of licorice in different commercial grades were analyzed and discussed. The analysis of growth dynamic trends of licorice planted in GAP bases also suggested an optimal harvest time from June to August.

In chapter 3, based on the previous research, TLC image analysis combined with clustering and principal component analysis were used to establish the fingerprint for the quality control of *radix salviae miltiorrhizae* (danshen). The selected seven TLC common peaks were fingerprint representative. The characteristic of active components distributing of danshen in different grades and growth dynamic trends of *radix salviae miltiorrhizae* were discussed.

In chapter 4, high performance liquid chromatography method was developed for the determination of the optimal harvest time of *zexie*. Authorized control sample of *zexie* as reference, fingerprint were positioned with 24-acetyl-alisol A and 23-acetyl-alisol B as the index components, 21 common peaks were analyzed. The established fingerprint was diagnostic and stable and used to analyze the growth dynamic trend of *zexie* in GAP bases.

**Keywords:** chromatography; traditional Chinese medicine; quality control

# 目 录

## 第一章 中药质量控制手段现代化及中药甘草、丹参、泽泻的研究现状

研究现状	1
1.1 前言	1
1.2 国内外中药质量研究现状及存在的问题	2
1.3 中药质量控制方法现代化	3
1.3.1 中药指纹图谱技术	3
1.3.2 中药有效成分提取方法	4
1.3.3 中药有效成分色谱分离分析技术	5
1.3.4 中药指纹图谱鉴别方法研究	7
1.4 薄层色谱（TLC）及其应用	9
1.4.1 薄层色谱的发展史	9
1.4.2 TLC 系统组成	10
1.4.3 TLC 的分离原理	13
1.4.4 影响 TLC 分离的因素	14
1.4.5 TLC 的特点	16
1.4.6 TLC 的应用	17
1.4.7 TLC 的最新发展	18
1.5 甘草研究进展	21
1.5.1 甘草的化学成分	22
1.5.2 甘草的药理作用	23
1.5.3 在其他方面的开发利用	24
1.5.4 甘草质量控制研究现状	24

<b>1.6 丹参研究进展</b>	25
1.6.1 丹参的化学成分	25
1.6.2 丹参的药理作用	26
1.6.3 丹参质量控制研究现状	27
<b>1.7 泽泻研究进展</b>	27
1.7.1 泽泻的化学成分	27
1.7.2 泽泻的药理作用	28
1.7.3 泽泻的质量评价研究概况	28
<b>1.8 本论文工作的研究目的、意义及主要内容</b>	29
<b>参考文献</b>	30

## 第二章 甘草薄层色谱指纹图谱研究及其在甘草质量控制中

的应用	39
<b>2.1 前言</b>	39
<b>2.2 实验部分</b>	39
2.2.1 材料和仪器	39
2.2.2 实验方法	42
<b>2.3 结果与讨论</b>	44
2.3.1 样品前处理	44
2.3.2 固定相对分离效果的影响	46
2.3.3 展开剂系统的选择	48
2.3.4 TLC 多次展开的研究	51
2.3.5 其他因素对展开的影响	60
2.3.6 TLC 展开后斑点鉴定与纯度分析	62



2.3.7 TLC 指纹图谱用于甘草质量控制·····	64
<b>2.4 结论·····</b>	<b>74</b>
<b>参考文献·····</b>	<b>75</b>
 <b>第三章 薄层色谱指纹图谱在丹参药材质量评价中的应用 ····</b>	<b>77</b>
<b>3.1 前言·····</b>	<b>77</b>
<b>3.2 实验部分·····</b>	<b>77</b>
3.2.1 材料和仪器·····	77
3.2.2 实验方法·····	79
<b>3.3 结果与讨论·····</b>	<b>80</b>
3.3.1 丹参 TLC 指纹图谱图像分析·····	80
3.3.2 丹参药材 TLC 指纹图谱计量学分析·····	82
<b>3.4 结论·····</b>	<b>86</b>
<b>参考文献·····</b>	<b>87</b>
 <b>第四章 液相色谱指纹图谱在泽泻生长动态研究中的应用 ····</b>	<b>88</b>
<b>4.1 前言·····</b>	<b>88</b>
<b>4.2 实验部分·····</b>	<b>88</b>
4.2.1 材料和仪器·····	88
4.2.2 实验方法·····	89
<b>4.3 结果与讨论·····</b>	<b>91</b>
4.3.1 有效成分提取方法的选择 ·····	91
4.3.2 TLC 实验结果分析·····	91
4.3.3 HPLC 条件的优化及主要色谱峰的鉴定 ·····	92

4.3.4 指纹图谱分析 .....	95
4.3.5 泽泻中 24-乙酰泽泻醇 A 和 23-乙酰泽泻醇 B 的含量测定 .....	97
<b>4.4 结论 .....</b>	<b>100</b>
<b>参考文献 .....</b>	<b>100</b>
<b>附录：在学期间发表的论文 .....</b>	<b>102</b>
<b>致谢 .....</b>	<b>103</b>

# CONTENT

<b>Chapter 1. Modernization of Quality Control of Traditional Chinese Medicine and Research Status quo of Licorice, Danshen and Zexie.....</b>	<b>1</b>
<b>1.1 Introduction.....</b>	<b>1</b>
<b>1.2 Research and development of quality control of TCM.....</b>	<b>2</b>
<b>1.3 Modernization of quality control of TCM.....</b>	<b>3</b>
1.3.1 Fingerprint technique of TCM.....	3
1.3.2 Extraction technology of TCM.....	4
1.3.3 Chromatographic separation technology of TCM.....	5
1.3.4 Fingerprint identification method of TCM.....	7
<b>1.4 Modern TLC and its Application.....</b>	<b>9</b>
1.4.1 History of TLC.....	9
1.4.2 Constitutes of TLC system.....	10
1.4.3 Separation mechanism of TLC.....	13
1.4.4 Factors influence TLC separation.....	14
1.4.5 Characteristic of TLC.....	16
1.4.6 Application of TLC.....	17
1.4.7 Developments of TLC.....	18
<b>1.5 Research status quo of licorice.....</b>	<b>21</b>
1.5.1 Chemical constituents.....	22
1.5.2 Pharmacology.....	23
1.5.3 Development and utilization.....	24

1.5.4 Research status quo of QC.....	24
<b>1.6 Research status quo of danshen.....</b>	<b>25</b>
1.6.1 Chemical constituents.....	25
1.6.2 Pharmacology.....	26
1.6.3 Research status quo of QC.....	27
<b>1.7 Research status quo of zexie.....</b>	<b>27</b>
1.7.1 Chemical constituents.....	27
1.7.2 Pharmacology.....	28
1.7.3 Research status quo of QC.....	28
<b>1.8 Objective, significance and main contents of the paper.....</b>	<b>29</b>
<b>References.....</b>	<b>30</b>

## **Chapter 2. TLC Fingerprint Studies and Its Application on Quality Control of Licorice.....39**

<b>2.1 Introduction.....</b>	<b>39</b>
<b>2.2 Experimental.....</b>	<b>39</b>
2.2.1 Materials and Instruments.....	39
2.2.2 Methods.....	42
<b>2.3 Results and Discussions.....</b>	<b>44</b>
2.3.1 Preparation of sample.....	44
2.3.2 Effects of sorbents on TLC.....	46
2.3.3 Selection of optimal eluent systems.....	48
2.3.4 Studies on multiple development methods of TLC.....	51

2.3.5 Effects of other parameters on TLC.....	60
2.3.6 Post-TLC substance identification and purity analysis.....	62
2.3.7 Application of TLC fingerprint on quality control of licorice...	64
<b>2.4 Conclusions.....</b>	<b>74</b>
<b>References.....</b>	<b>75</b>

### **Chapter 3. Application of TLC Fingerprint on Quality Control of Danshen.....77**

<b>3.1 Introduction.....</b>	<b>77</b>
<b>3.2 Experimental.....</b>	<b>77</b>
3.2.1 Materials and Instruments.....	77
3.2.2 Methods.....	79
<b>3.3 Results and Discussions.....</b>	<b>80</b>
3.3.1 TLC fingerprint image analysis of danshen.....	80
3.3.2 TLC fingerprint chemometrics analysis of danshen.....	82
<b>3.4 Conclusions.....</b>	<b>86</b>
<b>Reference.....</b>	<b>87</b>

### **Chapter 4. Application of HPLC Fingerprint on Zexie Growth Dynamic Studies.....88**

<b>4.1 Introduction.....</b>	<b>88</b>
<b>4.2 Experimental.....</b>	<b>88</b>
4.2.1 Materials and Instruments.....	88
4.2.2 Methods.....	89

<b>4.3 Results and Discussions.....</b>	<b>91</b>
4.3.1 Selection of extraction methods.....	91
4.3.2 TLC results analysis.....	91
4.3.3 Optimization of HPLC parameters and identification of main chromatography peaks.....	92
4.3.4 Fingerprint analysis.....	95
4.3.5 Content determination of two main components in zexie.....	97
<b>4.4 Conclusions.....</b>	<b>100</b>
<b>References.....</b>	<b>100</b>
 <b>Appendix: Publications During Msc Study.....</b>	 <b>102</b>
<b>Acknowledgements.....</b>	<b>103</b>

# 第一章 中药质量控制现代化及 中药甘草、丹参、泽泻的研究现状

## 1.1 前言

我国传统中医药在世界各国传统医药中独树一帜，其历史最悠久，内容最丰富，医疗理论奇特，医疗水平居前列。我国作为一个传统医药大国，有着丰富的药物资源。在 21 世纪“回归自然”的世界潮流中，传统医药再次焕发出强大的生命力和显示出广阔的发展前景。目前西方医药界已改变了原有观点，对中医药发生兴趣，使中医药在德、美、日等西方发达国家被重视起来。

但是考察目前我国中药现状，可以发现中药无论在研究方面或生产方面与西方先进药业相比还存在一定差距，这一部分固然是由于中药体系的复杂性，另一主要原因是我国在中药研究中引入现代化科学知识和技术含量偏低。中药要现代化、规范化、走向世界，其中一个重要的方面是中药分析技术要现代化，简化前处理，提高分离能力、检测和信息提取水平。同时需提高中药质量标准，完善检测项目，采用现代检测技术，以使中药质量稳定可控。

在中药现代化研究中，化学工作者所面临的主要难题是从数以百计的化学成分中，确定并分离提取有效成分，并获取其定性定量信息，凭借常规方法是难以奏效的，有时甚至是不可能的。必须在了解和掌握各种现代化学分离分析方法的基础上，有针对性地创建新方法。

本章通过大量的文献，对国内外中药质量控制研究现状、发展趋势及

甘草、丹参、泽泻三味中药的研究现状进行了归纳和总结。在文献综述的基础上，归纳了本论文研究课题的立体依据、研究目的、意义及主要内容。

## 1.2 国内外中药质量研究现状及存在的问题

近年来，我国中药质量标准趋于完善和规范，量化控制水平不断提高。行业内中药材种植生产的 GAP 管理规范意识不断加强，国家“九五”科技攻关课题“常用中药材质量标准规范化研究”完成了 71 种中药材有效成分对照品的制备研究及质量标准研究，取得了显著成绩；国家高技术产业司在 2000 年正式启动了“现代中药产业化”专项；科技部“十五”攻关项目中，也支持了中药生产过程关键技术的研究。并且随着中药行业效益水平的提高，一些先进可行的质量控制技术与方法不断的引入到中药产品的质量控制在，使中药质量检测水平日益提高，基本达到国外同步水平。

尽管我国中药质量标准现代化发展已取得了上述进步，但整体上仍存在着许多不足或问题：多数中药材的药效成分不明确，缺乏量化指标；中药的多指标控制水平低，质与量相关性差；长期以来，中药制药企业缺乏生产过程工艺参数稳定性和严格一致性的质量监控手段，产品均一性差<sup>[1]</sup>。中药现代化还有很长的路要走，还有很多的工作要做。

国际上，植物药由于毒性小、相对合成药物易于获得，越来越受到人们的重视，国际社会对植物药的需求日益扩大。目前，国际上有约 170 多家公司、40 多个研究团体从事中药的研究和开发工作。与此同时，国际上申请的中药及其它植物药专利数量迅速上升<sup>[2]</sup>。此外，欧共体对草药进行了统一立法；在加拿大和澳大利亚等国家，草药地位已经合法化；美国政府也已起草了植物药管理办法，开始接受天然药物<sup>[3]</sup>。这些为中药作为治



Degree papers are in the "[Xiamen University Electronic Theses and Dissertations Database](#)". Full texts are available in the following ways:

1. If your library is a CALIS member libraries, please log on <http://etd.calis.edu.cn/> and submit requests online, or consult the interlibrary loan department in your library.
2. For users of non-CALIS member libraries, please mail to [etd@xmu.edu.cn](mailto:etd@xmu.edu.cn) for delivery details.

厦门大学博硕士论文摘要库